

细菌胞外酶活性的调控因素 *

THE CONTROLLING FACTORS OF EXTRACELLULAR ENZYMATIC ACTIVITIES

宋福行¹ 焦念志²

(¹中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

(²厦门大学环境科学中心 361005)

水生环境中的有机物大多(>95%)以高分子聚合物的形式存在,它们是水生异养细菌的主要碳源及能量来源。这些高聚物只有通过胞外酶水解成小分子单体或低聚物才能被细菌等异养微生物用以维持新陈代谢。这一生化过程是调节海洋有机营养平衡的重要生态因子,又是众多异养微生物赖以生存的基础。胞外酶活性不但能够指示水生环境中有机物的数量和质量,而且还能对此环境中流过食物环的物质通量进行估计。胞外酶的水解作用是细菌生长中的一个速度限制步骤,胞外酶也正是许多海区中细菌生长所必不可少的。对于自然水体、人工条件及沉积物环境中有机物(OM)与胞外酶之间的关系已有许多报道,但不同海区胞外酶活性的控制因素还不是十分明确。

1 pH 对胞外酶活性的影响

pH 代表了水体的酸碱度,它对酶活性的影响是多方面的。如影响到酶分子的构象,从而影响到决定酶作用专一性及活性的活性中心的性能,影响酶与底物分子的离子化程度及其间的亲合力。酶在不同 pH 条件下,将会以不同的解离状态存在,而往往只有一种解离状

态最适合其酶促反应, pH 还影响到酶的稳定性。因此对于任何一种酶在一定条件下都有它特定的最适 pH,这与酶本身的特性有关。而对于自然水体中, pH 还影响到微生物的生理特性,从而进一步影响酶的活性。Edling 1996 年在较大 pH 范围内(3.1~9.2)进行了 β -葡萄糖苷酶的活性对水体酸碱度的反应研究,发现自由 β -葡萄糖苷酶($< 0.2 \mu\text{m}$ 滤液)在较低的 pH 下活性最高,并且在短时间内酶活性对 pH 的反应不受源水体 pH 影响。当在 $0.2 \mu\text{m}$ 的滤液中加入土著菌种(包括所有源水体中的菌种)并调节样品 pH 时发现:细菌在一定的时间内通过生理调节或通过改变优势种的组成来适应 pH 的变化。酶所参与的是一种化学反应,因而在其他条件一致的情况下,同一种酶只能有一个最适 pH 值。Edling 的结果反映了微生物的环境适应性:生活在一定环境中的微生物对所生存的环境条件具有依赖性,当环境条件改变时,微生物为了适应新环境需要时间延滞。因为 pH 的变化影响了微生物的生产机制及其新陈代谢,从而使胞外酶的生产受到干扰,酶活性发生了变化。

2 温度对胞外酶活性的影响

研究发现,无论在温带还是在寒带的海洋生态系统中,温度是控制胞外酶分解有机物的一个十分重要的因素。温度对于一个酶促反应速度的影响是很复杂的,一般可归纳为两个方面:一是酶作为一种生物催化剂,它具有普通无机催化剂一样的特性,即催化效率随温度的升高而增加,化学动力学中通常用 Q_{10} 来度量, Q_{10} 定义为一定温度下的反应速度与低 10°C 时的反应速度之比,一般反应温度每升高 10°C ,反应速度增加 1~2 倍,虽然自然水生环境中的温度变化不十分显著,但用这个参数可以方便地对各种不同酶的温度效应进行比较;二是酶促反应又具有其生物学特性,当温度升高到一定的程度,随着酶蛋白的变性,便会逐步以至完全丧失其催化活性。

不同酶活性的温度效应不尽相同,但普遍随温度的升高而增加。Meyer 1987 年在对沉积物中胞外酶活性季节性变化研究中发现

* 国家自然科学基金资助项目 498-76033 号、国家杰出青年基金资助项目 39625008 号。
收稿日期:2001-02-12;
修回日期:2001-04-29

春季酶活性逐渐增加,而秋季却逐渐减小,并指出主要是受温度变化影响的结果。Vetter 1994 年对肽酶、几丁酶及脂酶的 Q_{10} 进行了系统的研究,指出温度对几丁酶的影响最显著($Q_{10} \leq 2$ 很少出现);肽酶的温度系数最小(70%的 $Q_{10} \leq 2$);海水样品中酯酶的 Q_{10} 有 33% 大于 2,而从悬浮沉积物捕集器所得样品的 Q_{10} 都大于 2。这表明温度对不同种酶活性的影响是不同的。Chróst 1989 年在不同温度下测定了 β -葡萄糖苷酶的活性,发现在 28 °C 时活性最高(现场水温 7.5 ~ 19.2 °C),说明酶的最适温度与现场温度有一定的差别。Arnosti^[1] 的研究表明,不同水体条件下的同一种水解酶的最适温度是不同的。自然水体中存在多种同功酶,虽然它们能水解同一类自然底物,但酶分子的结构不同,因而不同条件下的同一类水解酶的最适温度有所不同。从各温度下得到的酶促反应的温度系数,根据 Arrhenius 方程($\ln(k) = -E_a/(RT) + B$; k 为反应的速率常数, E_a 为反应的实验活化能, R 为气体常数, T 为反应时的热力学温度, B 为常数),做图可估算出此酶促反应的活化能,从活化能即可进一步从能量方面探讨水生环境中的物质与能量通量。

3 金属离子对胞外酶活性的影响

金属离子对酶活性的影响主要有 3 个方面。一是某些金属是酶分子中的一部分,缺少了这种金属,酶的活性就会受到抑制。如一分子碱性磷酸酶含有 4 个锌离子,在酸性条件下很容易失去锌离子而失去活性,当增加 pH 并添加锌离子时,酶活性又逐渐恢复。据 Fontigny 等 1987 年报道,自然水体中的蛋白水解酶(肽酶)大都是金属蛋白酶,并且 Stensvåg 等 1993 年的研究表明,肽酶以锌作为其催化中心。

Mayer 1989 年以络合剂 EDTA(乙二胺四乙酸)来进行肽酶活性的抑制实验,虽然 EDTA 能使细胞破裂以至释放出细胞内酶,这在一定程度上能增加水体中肽酶的活性,但结果酶的活性反而降低。EDTA 是一种高强度的络合剂,几乎能和所有的二价金属离子形成络离子,从而使肽酶失去其催化中心或激活离子而丧失活性。这说明金属离子是影响酶活性的一个十分重要的因素。Fukuda^[2] 在对近北极太平洋海区的研究中发现东部地区肽酶与 β -葡萄糖苷酶活性的比值随深度的增加而增加。据 Skopintsev 1981 年报道,按一般规律蛋白质比多糖更容易降解,并且 Middelboe 等 1995 年的研究表明,随着有机碎屑分解的进行,这两种酶活性比值逐渐降低,而 Fukuada 在西部的实验结果与之相符合,而在东部得出的结果却正好相反。进一步的研究表明东部地区表层溶解锌缺乏,而中层溶解锌浓度增加。这说明在东部表层由于溶解锌的匮乏,肽酶的合成受到限制;随着深度的增加溶解锌逐渐增加(1 ~ 14 nmol/L),肽酶的合成解除限制,其活性开始增加。二是有的金属离子是酶的激活剂,它们虽然不是酶合成所必需的,但这些金属离子能提高酶的活性,如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 能增加肽酶的活性。据 King 1986 年报道 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 还能提高 β -葡萄糖苷酶的活性。三是有些金属是酶活性的抑制剂。酶本身是蛋白质,它具有变性的特性,当某些金属离子存在时,它可能导致酶的变性,从而使酶失去活性。Little 1979 年的结果表明 0.75 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 能使蛋白酶活性降低 67%,而 2 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 几乎完全使其失去活性。随着工业的进一步发展,大量富含金属离子的污水不断排入海洋,对海洋(特别是近岸海水)中溶解金属离子的浓度的改变起了不可忽视的作用,其对胞外酶活性的影响也需要进行更加深入的研

究。

4 有机物分子的影响

据 Borriess 1988 年报道,胞外酶的合成是异养细菌在营养匮乏时最基本的生存策略之一,但胞外酶的合成及分泌是一个能量消耗过程,当有足够的易于吸收利用的小分子有机物存在时,细菌为减少能量损失而抑制胞外酶的合成。Chróst 1989 年认为酶活性处于一个抑制-诱导机制的控制下。当浮游植物迅速生长时,其强烈的光合作用释放出大量的光合作用产物,包括易于被细菌吸收利用的小分子有机物,抑制了细菌酶的合成,并限制了酶活性。随着浮游植物的大量死亡,光合作用减弱,细胞自溶释放出大量的高分子聚合物,水体中可被利用的小分子有机物降低到某一临界水平时,酶的合成开始启动,酶的活性逐渐增加。Boetius 1996 年在长时间(63 d)培养实验中发现:添加葡萄糖和糖胶(氨基乙酸)时,在前 30 d 内分别降低了 α -葡萄糖苷酶和肽酶的活性,这是由于所加的小分子有机物已基本满足细菌生长需要,从而抑制了酶的合成;几丁质(甲壳质)水解产生的 N-乙酰氨基葡萄糖既为细菌提供了碳源又提供了氮源,因而添加几丁质大大降低了肽酶的活性。Rosenstock 和 Simon 1993 年报道,海洋细菌有时把氨基酸作为附加碳源,因此肽酶活性同时受碳新陈代谢的影响,添加纤维二糖和葡萄糖的实验前 21 d 降低了肽酶的活性可能与此有关。

胞外酶水解有机高聚物是一个化学作用与生物作用相互结合的复杂过程,必然受各种环境因素及生物因素的强烈影响。对于不同海区来说是哪一类酶控制了细菌的生长?对某一特定海区的不同季节是何种因素决定了各种酶活性的比率,是温度?还是各种溶解有机物含量的比值?在某些受金属离

海洋重力仪的现状和发展 *

PRESENT STATE AND DEVELOPMENT OF MARINE GRAVIMETERS

张遴梁

(国家海洋局第一海洋研究所 青岛 266061)

重力资料的质量高低及其应用范围在很大程度上取决于所使用的重力测量仪器设备。目前广泛使用的重力仪大都为相对重力仪,自 30 年代第一台海洋重力仪诞生以来,已有 70 a 历史,特别是近 20 a 来随着金属材料技术、电子技术、传感技术和计算机技术的高速发展,对重力仪的集成化、数字化、自动化方面有了重大的改进和发展,使它在轻型化、自动化方面有了很大的发展,更容易操作,更快速地取得测量资料。

本文根据最新的文献资料和对当前国际市场上海洋重力仪的发展情况进行介绍,并且介绍 LACOSTE & ROMBERG 公司生产的航空-海洋重力仪。

1 海洋重力仪概况

人们为了测量重力的变化和进行重力的相对测量,在上世纪 30 年代已研究设计了几十种重力仪。几十年来比较流行和广泛应用的传感器主要有以下两种:(1)以

Lacoste & Romberg 发明的“零长弹簧”为基础设计的传感器,其代表产品为目前世界上广泛应用的 L & R 金属弹簧重力仪。(2)石英“零长弹簧”传感器,如加拿大 World-Wide 重力仪和美国的 Worden 重力仪。

我国在 80 年代由地质部生产的 ZSM 系列的重力仪属于石英“零长弹簧”。

L & R 公司从 1939 年起开始制造高精度重力仪,直到 1965 年才生产了世界上第一台带有动态稳定平台的重力仪。这样的重力仪第一次实现了在船上或飞机上进行高精度测量。迄今已有 100 多台这类重力仪在世界各地天空和海洋中连续不断地记录着重力资料,使地球物理工作者更快速更方便地完成世界各地(包括海洋)的重力测量。此后, L & R 公司依据其著名的享有专利的“零长弹簧”悬挂系统为核心的传感器和采用陀螺稳定基准平台不断改进重力仪传感器和垂直基准平台,同时,对系

统的电子线路也进行了不断改进使其得到不断完善。在 80 年代中期生产了体积较小,重量较轻,数字自动化较高的航空-海洋重力仪。1997 年起在航空-海洋重力仪方面具有 35 a 经验的 L & R 公司经过 9 a 的精心设计和制作,计划于 2001 年正式推出新一代动态重力仪——航空-海洋重力仪 II™,据称是当今世界上最为完美的重力仪之一。

另一家重力仪生产商为德国 Bodensee 公司,也是历史悠久的享有很高知名度的公司,它生产 KSS 系列带有稳定平台的重力仪。在 1975 年生产了海洋重力仪 KSS-5 型,它带有 GSS20 传感器和稳定的陀螺平台 KT20/KE20,它可以在航行的船只上进行连续的重力测量,到 1981 年共生产了 14 台,其中我

* 国家 863 计划资助项目 820-01-02-02-01 号。

收稿日期:2001-05-15;

修回日期:2001-06-11

子严重污染的海区,究竟是哪种离子对酶活性起了决定性的作用?只有进行更深入细致的研究,才能明确不同海区、不同季节以及不同沉积物与水体中控制酶活性的最主

要因素。

主要参考文献

- 1 Amosti C., Jørgensen B. B., Sagemann J. et al. *Marine Ecology Progress Series*, 1998, 165: 59 ~ 70

- 2 Fukuda Rumi. *Limnol. Oceanogr.*, 2000, 45(4): 930 ~ 939

(本文编辑:刘珊珊)